

Zur pH-Abhängigkeit des
Wachstumsverhaltens von
Staphylococcus aureus

Peter Baldauf



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr.med. Dr.h.c. Otto Braun-Falco

Zur pH-Abhängigkeit des Wachstumsverhaltens von
Staphylococcus aureus

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Baldauf
aus
Füssen
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr.h.c. O. Braun-Falco

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Ruckdeschel

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr.med. H.C. Korting

Dekan: Prof. Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Januar 1987

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

<u>1.</u>	<u>Einleitung</u>	1
<u>2.</u>	<u>Material und Methodik</u>	2
2.1.	Material	2
2.1.1.	Staphylococcus aureus-Stämme	2
2.1.2.	Identifizierung	2
2.1.3.	Wachstumsmedium, Titrierlösung und Puffersystem	3
2.1.4.	Photometrie	4
2.1.5.	pH-Metrie	4
2.2.	Methodik	4
2.2.1.	Vorversuche	4
2.2.1.1.	Eichkurve	4
2.2.1.2.	Ermittlung des optimalen Pufferanteils an der Nährlösung	6
2.2.1.3.	Optimale Autoklavierbedingungen	12
2.2.2.	Hauptversuche	12
<u>3.</u>	<u>Ergebnisse</u>	13
<u>4.</u>	<u>Diskussion</u>	24
<u>5.</u>	<u>Zusammenfassung</u>	29
<u>6.</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	31
<u>7.</u>	<u>Lebenslauf</u>	39
<u>8.</u>	<u>Danksagung</u>	41

1. Einleitung

Im Jahre 1928 zusammen mit Schade (47), später dann unter Mitarbeit von Hausknecht, Schmidt und Kiefer (30, 31, 32) bestimmte Marchionini mit der Chinhydronelektrode in ausgedehnten Untersuchungen die regionär unterschiedliche H-Ionenkonzentration der Hautoberfläche.

Auf Grund der höheren Keimzahlen der Standortflora in den alkalisch reagierenden Beugen- und Faltenregionen einerseits und der empirisch bekannten erhöhten Neigung dieser Regionen zu bakteriellen und pilzbedingten Erkrankungen andererseits gelangte er zu dem in der Folgezeit viel diskutierten Begriff des als schützend aufgefaßten "Säuremantels". Unter Verwendung von *Bacterium prodigiosum* als Testkeim stellten Marchionini, Schmidt und Kiefer (31) das Verhalten der Unterarminnenseite (Reaktion im Sauren) dem der Achselhöhle (Reaktion im schwach Sauren bis Alkalischen) gegenüber. Es ergab sich, daß vom Unterarm schon 20 Minuten nach Auftragen der *Prodigosus*keime ein Wachstum des Testkeims auf Agarplatten durch Überimpfung nicht mehr zu erzielen war, während dies in der Achselhöhle erst nach knapp drei Stunden der Fall war.

1952 zeigten dann Pillsbury und Rebell (43), daß ein pH-Wert von 3,8 deutlich bakteriostatisch, wenn auch nicht bakterizid wirkt.

Röckl, Spier und Pascher (46), bzw. Marchionini, Pascher und Röckl (35) untersuchten den Einfluß von Hornschichteluat von unterschiedlichem pH-Wert (insbesondere pH 5 und pH 7) und fanden dabei eine drastische Keimreduktion von *Staphylococcus aureus* wie *Staphylococcus albus* bei ersterem pH-Wert, während die eingesetzte (niedrige) Keimdichte bei letzterem weitgehend unbeeinflusst blieb. Iandolo et al. (22) untersuchten 1964 schließlich die Wachstumsrate von *Staphylococcus aureus* in tryptischer Sojabouillon bei unterschiedlichen pH-Werten und fanden dabei ein deutlich besseres Wachstum bei pH 7,5 als bei pH 5,0. Bei diesem Experiment wurde allerdings mit un-

gepufferten Medien gearbeitet, was eine pH-Veränderung während des Untersuchungszeitraumes bedingte.

Da sich in letzter Zeit die im übrigen schon lange vorhandenen, das Säuremantel-Konzept kritisierenden Stimmen (vgl. Cornbleet (12)) gegenüber der postulierten Azidität der Hautoberfläche an sich (48) wie ihren bakteriologischen Folgen (1) häufen, sei im Rahmen der folgenden in vitro Experimente noch einmal der Frage der pH-Abhängigkeit des Wachstumsverhaltens hautrelevanter Bakterien am Beispiel von *Staphylococcus aureus* nachgegangen.

2. Material und Methodik

2.1. Material

2.1.1. *Staphylococcus aureus*-Stämme

Es wurden fünf rezente klinische *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)-Isolate von Patienten der Dermatologischen Universitätsklinik München verwendet. Sie sind in einem Verzeichnis des bakteriologischen Labors der Klinik unter den folgenden Seriennummern aufgeführt: 5020/85, 5124/85, 5130/85, 5131/85 und 5136/85.

2.1.2. Identifizierung

Bezüglich ihrer Spezieszugehörigkeit wurden die Stämme nach den Empfehlungen der mikrobiologischen Fachliteratur (29, 15, 7, 51, 26, 21, 25) auf Grund folgender Merkmale klassifiziert: Koloniemorphologie (glatte, gelb pigmentierte Oberfläche, glatter Rand), Hämolyse auf Blutplatten, Grampräparat (grampositiv, traubenförmige Anordnung), positiver Ausfall des Objektträger-Plasmakoagulase-Tests (Agglutination) und typisches Verteilungsmuster der biochemischen Leistungen in einem kommerziellen Testsystem (API-Staph, API international, S.A., CH-1217 Geneve) (44, 37).

2.1.3. Wachstumsmedium, Titrierlösung und Puffersystem

Analog zu den eingangs zitierten Versuchen von Iandolo et al. (22) wurde hier ebenfalls tryptische Sojabouillon (TSB) (BBL, Heidelberg, D) als Wachstumsmedium verwendet. TSB setzt sich folgendermaßen zusammen:

Trypticase TM -Pepton.....	17g
Phyton TM -Pepton.....	3g
Natriumchlorid.....	5g
Dikaliumhydrogenphosphat.....	2,5g
Glukose.....	2,5g

Diese Mengenangaben beziehen sich jeweils auf 30g TSB-Trockensubstanz, aufgelöst in 1 Liter destilliertem Wasser. Der pH-Wert der nach dieser Vorschrift hergestellten Nährlösung beträgt $7,3 \pm 0,2$.

Um den jeweils gewünschten Ausgangs-pH zu erreichen, wurde die TSB mit 1N Natronlauge bzw. 1N Salzsäure titriert. Die Titriermengen waren äußerst gering, so daß kein nennenswerter Verdünnungseffekt durch die Zugabe der Titrierlösung entstand.

Da sich während des Wachstums von *S. aureus* das Milieu der Nährlösung in den sauren Bereich hinein verändert (Glukose wird zu Säure metabolisiert), wurde der TSB ein Puffersystem hinzugegeben, und zwar der von McIlvaine (23) 1921 erstmals beschriebene Zitronensäure-Phosphatpuffer, welcher sich aus 0,1 molarer Zitronensäure und 0,2 molarer Dinatriumphosphatlösung zusammensetzt. Der bei bakteriologischen Wachstumsversuchen häufig verwendete Phosphatpuffer (38, 24, 13, 11, 39) hat den Vorteil, daß er auf Grund seiner fünf verschiedenen pK-Werte (1,9; 3,1; 4,8; 5,4 und 6,7) in einem weiten Bereich von pH 2,2 bis 8,0 wirksam ist. Somit konnte bei allen Versuchsreihen ein und dasselbe Puffersystem ver-

wendet werden.

Die Herstellung der Pufferlösungen erfolgte in der Apotheke der klinischen Universitätsanstalten, München, nach den Anleitungen des Europäischen Arzneibuches (8) und den "Tabellen für die pharmazeutische Praxis" (17).

2.1.4. Photometrie

Das Wachstum von *S. aureus* wurde anhand der Suspensions-trübung photometrisch kontrolliert, und zwar mit dem Spectronic 20 Photometer der Firma Bausch&Lomb, Unterhaching, D.

Als optimale Wellenlänge wird von Oberzill (42) ein Wert von 650 nm angegeben. Auch Genigeorgis und Sadler (18) haben bei ihren Wachstumsversuchen mit *S. aureus* unter Einsatz des zuvor beschriebenen Photometers der Fa. Bausch&Lomb bei einer ähnlichen Wellenlänge (660 nm) gemessen.

2.1.5. pH-Metrie

Der pH-Verlauf der TSB-Nährlösung während des Wachstums von *S. aureus* wurde mit der pH-Elektrode Typ E56, WTW, 8120 Weilheim, D, kontrolliert, die zusammen mit dem Meßgerät pH Digi 520, WTW, Weilheim, D, eingesetzt wurde.

2.2. Methodik

2.2.1. Vorversuche

2.2.1.1. Eichkurve

Um die Durchführbarkeit der Photometrie als adäquate und äquivalente Methode anstelle der (aufwendigeren) Keimzahlbestimmung durch Ausplattieren zu dokumentieren, wurde eine Eichkurve erstellt, anhand derer die optische Dichte (OD) der Keimzahl von *S. aureus* (koloniebildende Einheiten pro ml) zugeordnet werden kann.

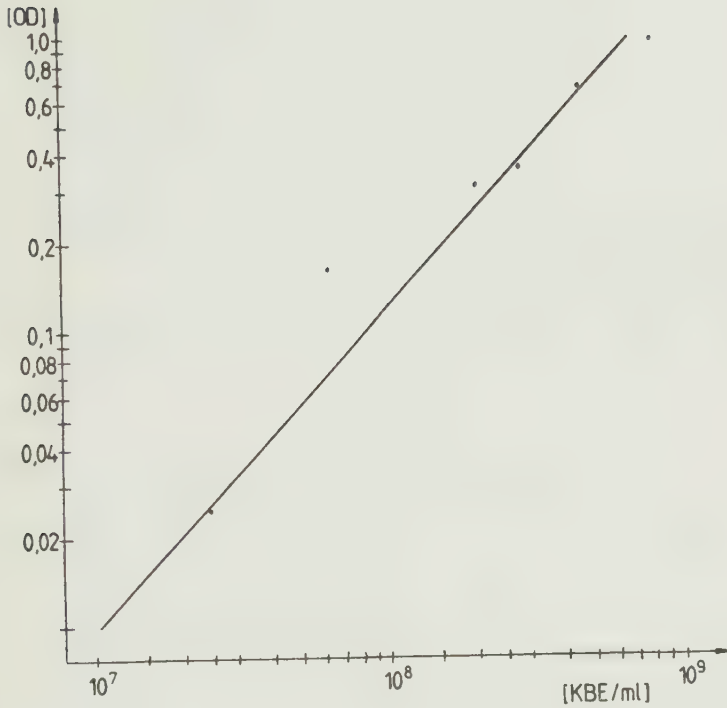


Abb. 1: Eichkurve für *Staphylococcus aureus* in TSB.
(OD = optische Dichte, KBE/ml = koloniebildende Einheiten pro ml).
Wellenlänge: 650 nm

Es wurden Verdünnungen einer stark trüben Ausgangssuspension (OD 1,0), die durch Einreiben einer auf Schafblutagar gewachsenen Übernachtskultur in TSB hergestellt wurde, im Verhältnis 1:1, 1:2, 1:4, 1:5, 1:10 und 1:100 zubereitet. Die verdünnten Suspensionen wurden photometriert und nach weiteren Verdünnungsschritten ausplattiert. Die Koloniezahlen konnten nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C ermittelt und auf koloniebildende Einheiten pro ml (KBE/ml) umgerechnet werden. Durch Auftragen der KBE/ml gegen die OD erhält man die in Abb. 1 wiedergegebene Eichkurve.

Aus den Einzelangaben für die jeweilige optische Dichte kann nun mittels der Formel

$$OD = k \times \text{Keimdichte}$$

($k = 1,1667 \times 10^{-9}$) auf die jeweilige Keimdichte, d.h. Anzahl koloniebildender Einheiten pro ml umgerechnet werden.

2.2.1.2. Ermittlung des optimalen Pufferanteils an der Nährlösung

Bei der Durchsicht der einschlägigen Fachliteratur fanden sich zwar Angaben über die Zusammensetzung und die Eigenschaften geeigneter Puffersysteme (38, 24, 13, 11, 39), konkrete Angaben über den mengenmäßigen Anteil eines Puffers an der Nährlösung wurden jedoch vermißt. Es wird an einer Stelle lediglich darauf hingewiesen, daß die Konzentration von Phosphatpuffern möglichst gering zu halten sei, da es bei größeren Phosphatmengen zu einer Wachstumshemmung und zu einem Ausfällen von unlöslichen Phosphatkomplexen kommen könne (49). Somit ergab sich die Notwendigkeit, anhand von Vorversuchen den optimalen Pufferanteil an der Nährlösung selbst zu ermitteln. Als Anhaltspunkt diente dabei die Empfehlung von Munroe (39), die Pufferkonzentration so

niedrig zu halten, daß die Kapazität des Puffers gerade noch ausreicht, eine pH-Verschiebung um mehr als 0,2 Einheiten zu verhindern.

Das Zitronensäure-Phosphat-Puffersystem wurde bei pH 7,5 und pH 6,5 getestet und zwar anhand zweier verschiedener *S. aureus*-Stämme: 5020/85 in der Versuchsreihe bei pH 7,5 und 5136/85 bei pH 6,5. Die Pufferanteile an der TSB betrugen jeweils 0%, 20%, 25%, 33% und 50%. Ein Verdünnungseffekt durch Pufferzugabe wurde dadurch vermieden, daß zur Herstellung von 100ml Nährlösung immer die gleiche Menge TSB-Trockenpulver (3g) verwendet wurde und gerade soviel Aqua destillata zugeschüttet wurde, um nach Zugabe des jeweiligen Pufferanteils eine Menge von 100ml TSB herzustellen. Beispiel: zur Herstellung von 100ml TSB mit 25% Pufferanteil benötigte man 3g TSB-Trockenpulver, 75ml Aqua dest. und 25ml Puffer.

Zu Versuchsbeginn wurden die autoklavierten Pufferlösungen (30 min bei 121°C) unter sterilen Kautelen zu den ebenfalls autoklavierten, mit Natronlauge bzw. Salzsäure auf pH 7,5 bzw. 6,5 eingestellten Sojabouillons in je einen 100ml-Erlenmeyerkolben gekippt. Somit standen pro Versuchsreihe fünf 100ml-Erlenmeyerkolben mit TSB zur Verfügung, deren Pufferanteile bei 0%, 20%, 25%, 33% und 50% lagen. Nun wurde der jeweilige, über Nacht bei 37°C auf Schafblutagarplatten kultivierte Stamm in 9ml sterile TSB eingerieben, derart, daß eine hohe Keimdichte von ca. 10^9 KBE/ml resultierte (dieser Wert wurde photometrisch kontrolliert). Von dieser trüben Ausgangssuspension wurde jeweils 1ml in die 100ml-Erlenmeyerkolben (welche die sterilen, gepufferten TSBs enthielten) pipettiert. Eine gründliche wie gleichmäßige Verteilung der Keime in der Nährlösung wurde durch den Einsatz eines Magnetrührers erreicht. Von diesen 100ml-Suspensionen wurden nun jeweils 3ml in Teströhrchen (welche sich anstelle von Küvetten ebenfalls zum Photometrieren eignen) pipettiert, derart, daß für jeden der fünf Versuchsansätze sieben Teströhrchen zur photo- bzw. pH-metrischen Messung bereitstanden. Die Röhrchen wurden

bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Die photometrische Kontrolle erfolgte alle dreißig, die pH-Metrie alle sechzig Minuten. Die gesamte Versuchsdauer betrug in der Versuchsreihe bei pH 7,5 sechs Stunden, bei pH 6,5 fünf Stunden. Alle zur pH-Metrie anstehenden Teströhrchen wurden vorher photometriert und nach der pH-Metrie verworfen, da durch die Messung mit der Glaselektrode eine Kontaminierung mit Fremdkeimen zu erwarten war. Die Ergebnisse dieser Vorversuche sind in den Abbildungen 2 bis 5, sowie in den Tabellen I und II dargestellt.

Man erkennt, daß die Phase des exponentiellen Wachstums etwa zwischen der ersten und dritten Stunde ab Versuchsbeginn liegt. Insbesondere aus Tabelle II scheint hervorzugehen, daß bei erhöhter Pufferkonzentration die relative Wachstumsrate steigt. Dies erklärt sich wohl durch den Phosphatanteil im Puffer, der für sich schon als Nährelement für das Bakterienwachstum gilt. Bei sehr hohen Pufferkonzentrationen (Pufferanteil 50%) scheint eine toxische Wirkung einzusetzen, da hier die relative Wachstumsrate wiederum unter derjenigen liegt, die in den Versuchsreihen ohne Puffer gemessen wurde. Die Pufferkapazität selbst wird dokumentiert durch einen Vergleich der pH-Veränderungen der Nährlösungen ohne und mit Pufferanteil; bei ungepufferten Medien ist der pH-Abfall während des Wachstums von *S. aureus* mehr als doppelt so groß wie beispielsweise bei denen mit einem Pufferanteil von 20%. Bei Synopsis der Ergebnisse scheint ein Pufferanteil von 25% an der tryptischen Sojabouillon vorteilhaft zu sein, da hierdurch während der exponentiellen Phase des Wachstums (zwischen der ersten und dritten Stunde nach Versuchsbeginn) der Ausgangs-pH nicht unter den von Munroe (39) als noch tolerabel empfohlenen Wert von 0,2 Einheiten fällt. Ferner unterscheidet sich das Wachstumsverhalten von *S. aureus* bei dieser Pufferkonzentration nur geringfügig von dem im ungepufferten Medium.

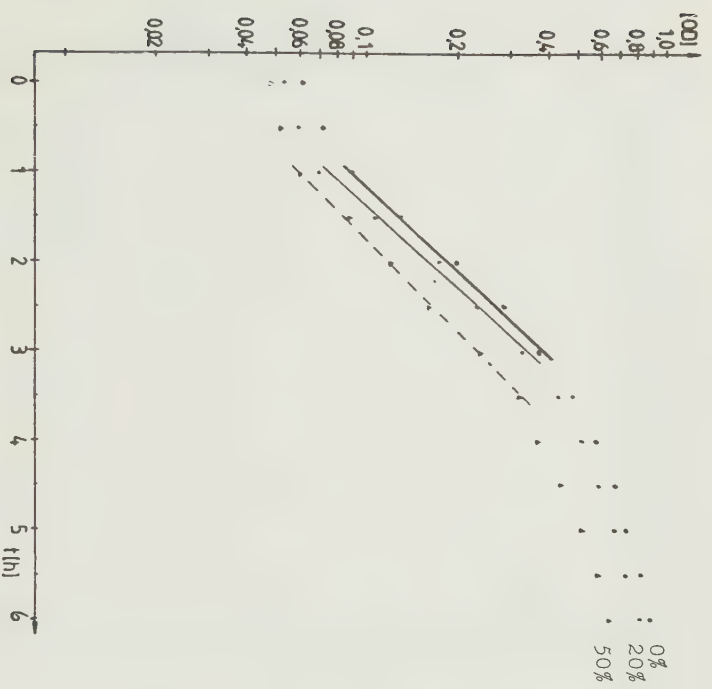


Abb. 2

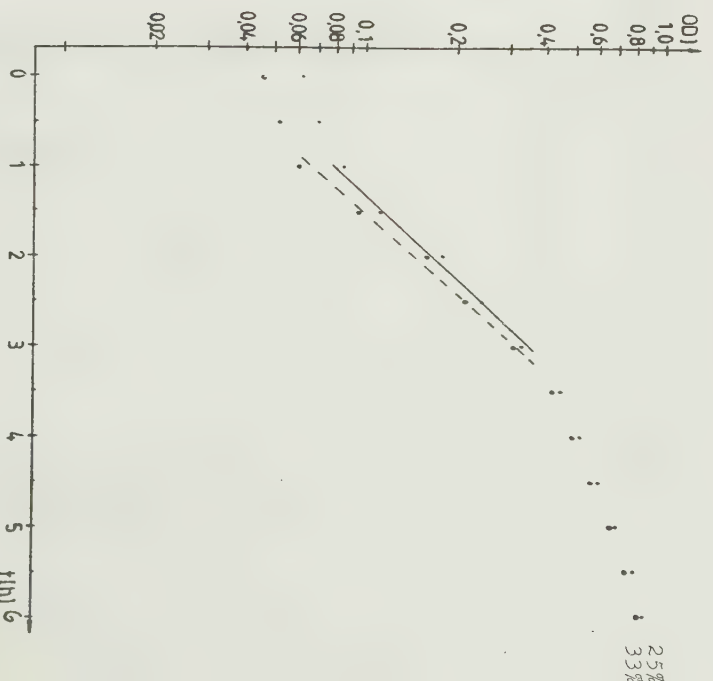
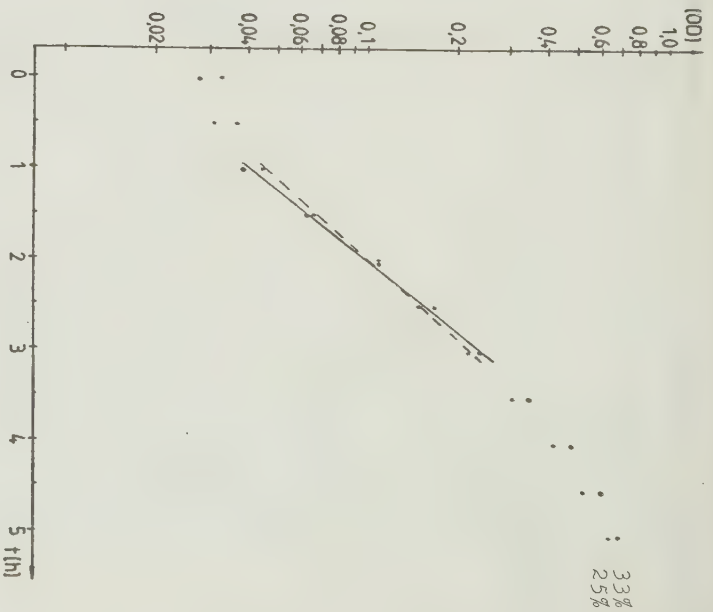
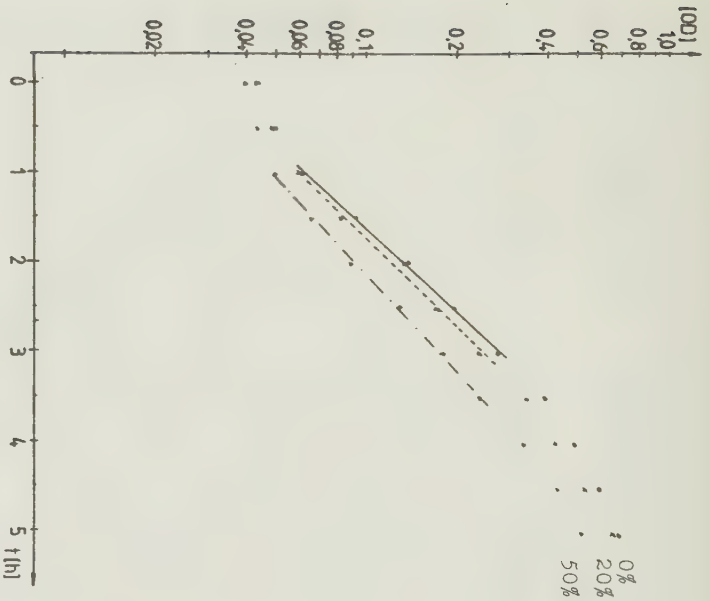


Abb. 3

Wachstumsverhalten von *Staphylococcus aureus*-Stamm 5020/85 bei pH 7,5 in Abhängigkeit vom Phosphatpufferanteil an der Nährlösung (TSB).
 (Zeichenerklärung: die durchgezogenen Linien stellen die Wachstumskurven dar. Die Prozentangaben beziehen sich auf den Zitronensäure-Phosphatpufferanteil an der TSB.)



Wachstumsverhalten von *Staphylococcus aureus*-Stamm 5136/85 bei pH 6,5 in Abhängigkeit vom Phosphatpufferanteil an der Nährlösung (tryptische Sojabouillon).
(Zeichenerklärung: die durchgezogenen und gestrichelten Linien stellen die Wachstumskurven dar. Die Prozentangaben beziehen sich auf den Zitronensäure-Phosphatpufferanteil an der TSB.)

Tabelle I: Wachstumsverhalten von *S. aureus*-Stamm 5020/85 bei pH 7,5 in Abhängigkeit vom Pufferanteil an der Nährlösung (TSB). Auswirkung der Pufferkonzentration auf die Pufferkapazität.

<u>Pufferanteil (%)</u>		0	20	25	33	50
<u>rel. Wachstumsrate</u> *		1,11	1,11	1,11	1,15	0,97
<u>pH-Abfall vom Ausgangswert (7,5)</u>						
nach:	1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	2 "	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
	3 "	0,4	0,2	0,15	0,1	0,05
	4 "	0,7	0,3	0,3	0,25	0,1
	5 "	1,0	0,4	0,4	0,35	0,15
	6 "	1,4	0,6	0,5	0,45	0,2

Tabelle II: Wachstumsverhalten von *S. aureus*-Stamm 5136/85 bei pH 6,5 in Abhängigkeit vom Pufferanteil an der Nährlösung (TSB). Auswirkung der Pufferkonzentration auf die Pufferkapazität.

<u>Pufferanteil (%)</u>		0	20	25	33	50
<u>rel. Wachstumsrate</u>		1,11	1,07	1,15	1,25	0,94
<u>pH-Abfall vom Ausgangswert (6,5)</u>						
nach	1 Std.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	2 "	0,09	0,03	0,04	0,04	0,03
	3 "	0,23	0,11	0,09	0,07	0,06
	4 "	0,74	0,26	0,23	0,24	0,11
	5 "	1,04	0,51	0,34	0,38	0,18

* Relative Wachstumsrate: sie ist definiert als Anzahl der Keimverdoppelungen pro Stunde. "Relativ" ist sie deswegen, weil sie sich ausschließlich auf das Wachstum in dem hier verwendeten Medium bezieht.

2.2.1.3. Optimale Autoklavierbedingungen

Aus Gründen einer sterilen und rationellen Arbeitsweise wäre es von Vorteil; wenn man den Phosphatpuffer bereits vor dem Autoklavieren der TSB hinzugeben würde, um zu Versuchsbeginn eine sterile, bereits gepufferte Nährlösung bereit zu haben. Meynell und Meynell (38) warnen jedoch davor, Phosphatpuffer zusammen mit Bouillon zu erhitzen, da hierdurch Phosphat als Kalziumsalz ausfallen kann. Also wurden TSB und Puffer erst nach dem Autoklavieren unter sterilen Kautelen zusammengelassen.

2.2.2. Hauptversuche

Es wurden insgesamt fünf *Staphylococcus aureus*-Stämme getestet: 5020/85, 5124/85, 5130/85, 5131/85 und 5136/85. Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit des Verfahrens wurden an einem der Stämme (5020/85) insgesamt drei Versuchsreihen an drei verschiedenen Tagen durchgeführt. An einem Versuchstag konnte jeweils ein Stamm auf das Wachstumsverhalten bei den folgenden pH-Werten untersucht werden: pH 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 und 8,0.

Zu Versuchsbeginn wurden unter Einsatz eines Magnetrührers jeweils 25ml steriler (d.h. autoklavierter) Puffer zu 75ml steriler, mit 1N Natronlauge bzw. 1N Salzsäure auf die gewünschten pH-Werte eingestellter TSB in einen 100ml-Erlenmeyerkolben gekippt. Der jeweilige, über Nacht auf Schafblutagarplatten bei 37°C subkultivierte Stamm wurde anschließend in ein Glasröhrchen, welches 9ml sterile TSB enthielt, eingerieben, derart, daß eine hohe Keimdichte von 10^9 KBE/ml entstand (dieser Wert wurde photometrisch kontrolliert). Je 1ml dieser trüben Suspension wurde nun in die 100ml Erlenmeyerkolben mit der gepufferten TSB pipettiert. Insgesamt standen nun sieben verdünnte Bakteriensuspensionen mit den oben erwähnten pH-Werten zur Verfügung. Von diesen wiederum wurden je 3ml in Teströhrchen (die sich, wie erwähnt, anstelle von Küvetten zur Photometrie eignen) pipettiert, derart, daß für jede der sieben pH-Kategorien sechs Teströhrchen bereitstanden. Die Inkubation erfolgte bei 37°C im Wasserbad. Die photometrischen Messungen erfolgten halbstündlich bei 650 nm. Dabei wurden die Suspen-

sionen vor jeder Einzelmessung kurz unter Einsatz eines elektrischen Rüttlers homogen durchmischt. Die pH-Metrie erfolgte zur Stunde 0, 3 und 5. Die zur pH-Metrie anstehenden Röhrchen wurden vorher photometrisch kontrolliert und anschließend verworfen. Die Versuchsdauer erstreckte sich über fünf Stunden. Nach Versuchsende wurden aus den Teströhrchen zwei bis drei Stichproben entnommen und auf Schafblutagar ausplattiert, um nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C durch angefertigte Grampräparate und den Koagulase-Objektträgerstest sicherzustellen, daß während der Versuche keine Kontaminierung mit Fremdkeimen erfolgte.

3. Ergebnisse

Aus den Werten der photometrischen Einzelmessungen (optische Dichte) wurden Mittelwerte errechnet und diese in logarithmischem Maßstab gegen die Zeit der Bebrütung (linearer Maßstab) aufgetragen. Die exponentielle Phase des Wachstums (log-Phase) eignete sich zur graphischen Darstellung des Wachstums. Durch die im Zeitintervall der log-Phase (erste bis einschließlich dritte Stunde ab Versuchsbeginn) liegenden Punkte wurde eine Gerade gezogen, anhand derer sich die Verdopplungszeit graphisch ermitteln ließ. Die Verdopplungszeit ist definiert als Zeitintervall, in der sich eine Zellmasse verdoppelt (16). Hierzu wurde das Zeitintervall in Minuten bestimmt, in dem sich die optische Dichte (OD) von 0,1 auf 0,2 verdoppelte. Aus der graphisch ermittelten Verdopplungszeit wurde dann die Wachstumsrate errechnet; sie ist definiert als Zahl der Verdoppelungen der Zellmasse pro Zeiteinheit (h^{-1})(16).

Tabelle III:

Relative Wachstumsraten von fünf verschiedenen Staphylococcus aureus-Stämmen bei unterschiedlichen pH-Werten. Maximaler pH-Abfall vom Ausgangswert nach dreistündigem Wachstum (log-Phase).

pH:	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Stamm:

5020/85	0,78	0,84	0,88	0,98	1,06	1,19	1,03
5124/85	0,71	0,79	1,00	1,30	1,30	1,30	1,30
5130/85	0,71	0,75	0,94	1,11	1,25	1,30	1,20
5131/85	0,75	0,77	1,00	1,25	1,43	1,50	1,20
5136/85	0,77	0,73	0,86	1,07	1,15	1,36	1,00

=====

maximaler pH-Abfall vom Ausgangswert:	0,05	0,05	0,10	0,13	0,16	0,17	0,23
---	------	------	------	------	------	------	------

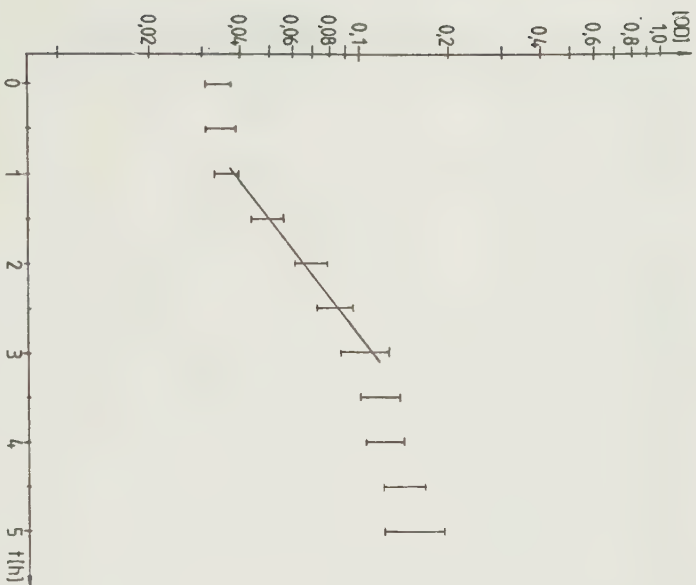


Abb. 6

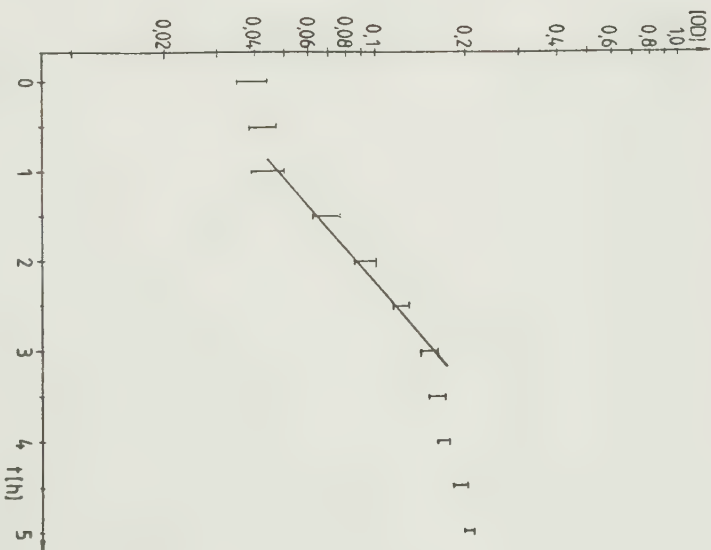


Abb. 7

Wachstum von *Staphylococcus aureus* Stamm 5020/85 in gepufferter TSB bei pH 5,0 (Abb. 6) und pH 5,5 (Abb. 7). Jeweils drei voneinander unabhängige Versuchsreihen sind graphisch zusammengefaßt. Die durchgezogene Linie stellt die mittlere Wachstumskurve dar, wie sie sich aus den drei Einzeluntersuchungen errechnen läßt. Die senkrechten Striche geben den jeweiligen Schwankungsbereich wieder.

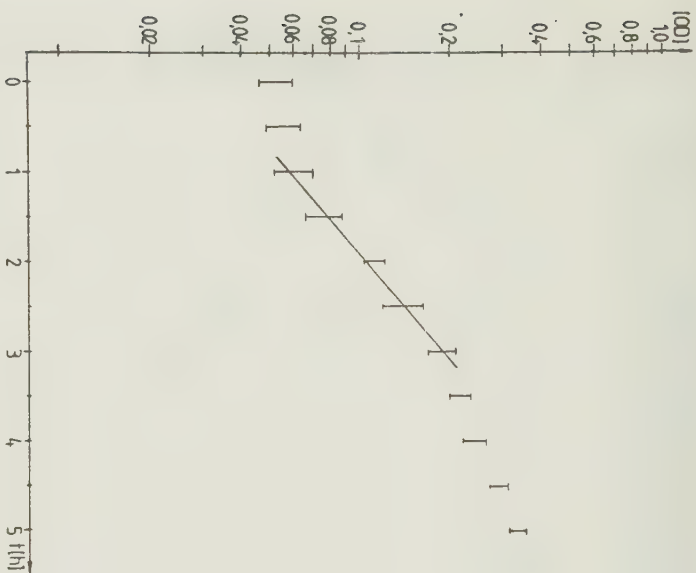


Abb. 8

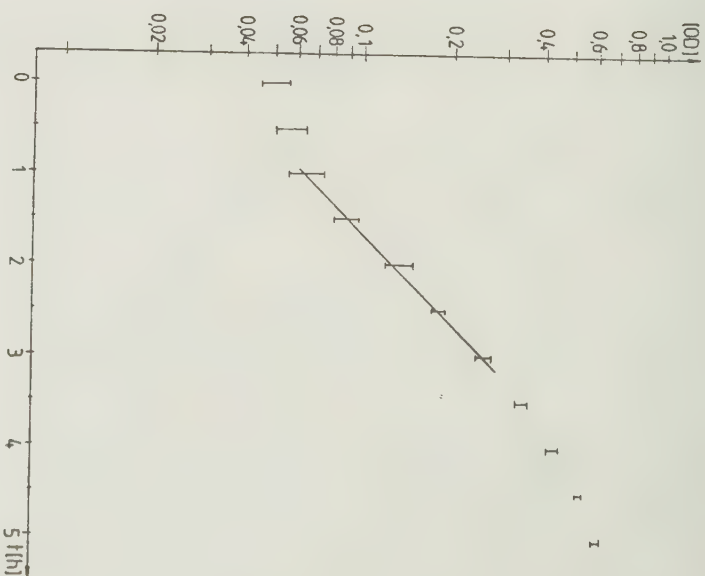


Abb. 9

Wachstum von *S. aureus*-Stamm 5020/85 bei pH 6,0 (Abb. 8) und pH 6,5 (Abb. 9). Die durchgezogene Linie stellt die mittlere Wachstumskurve dar, wie sie sich aus den drei Einzelmessungen errechnen läßt. Die senkrechten Striche geben den jeweiligen Schwankungsbereich wieder.

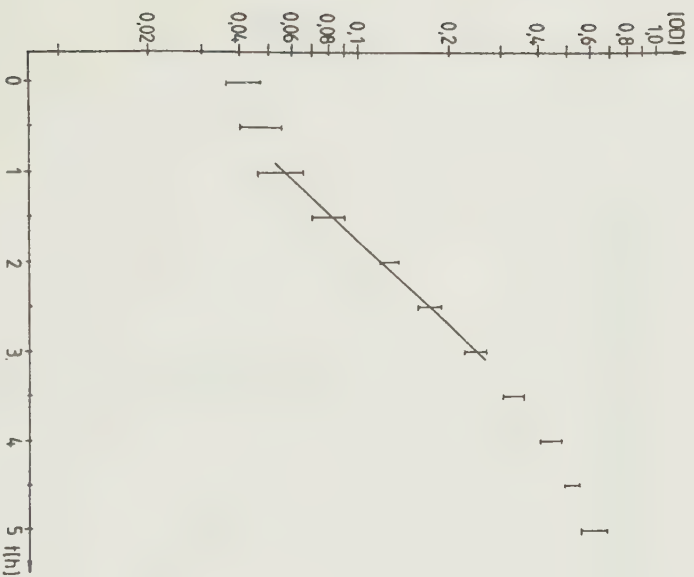


Abb. 10

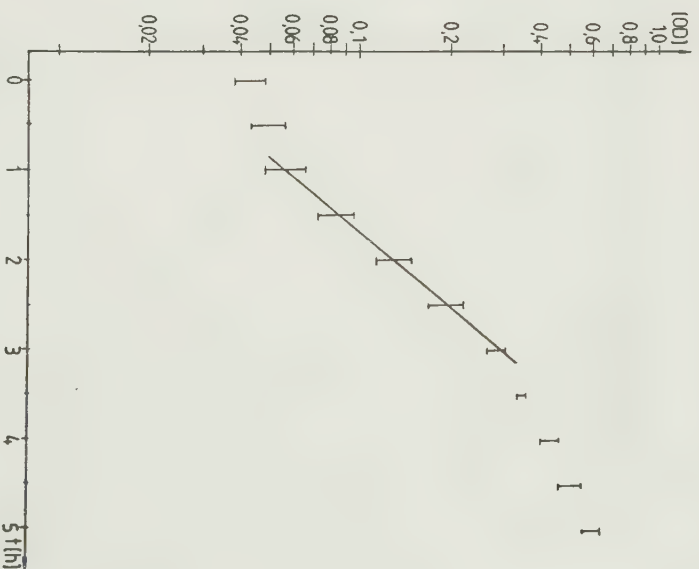
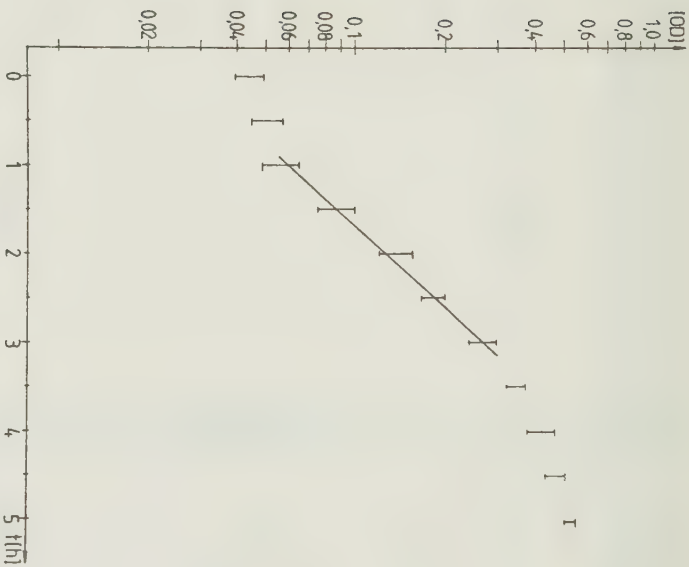


Abb. 11

Wachstum von *S. aureus*-Stamm 5020/85 bei pH 7.0 (Abb. 10) und pH 7.5 (Abb. 11). Die durchgezogene Linie stellt die mittlere Wachstumskurve dar, wie sie sich aus den drei Einzelmessungen errechnen läßt. Die senkrechten Striche geben den jeweiligen Schwankungsbereich wieder.

Abb. 12



Wachstum von *S. aureus*-Stamm 5020/85 bei pH 8,0. Die durchgezogene Linie stellt die mittlere Wachstumskurve dar, wie sie sich aus den drei Einzelmessungen errechnen läßt. Die senkrechten Striche geben den jeweiligen Schwankungsbereich wieder.

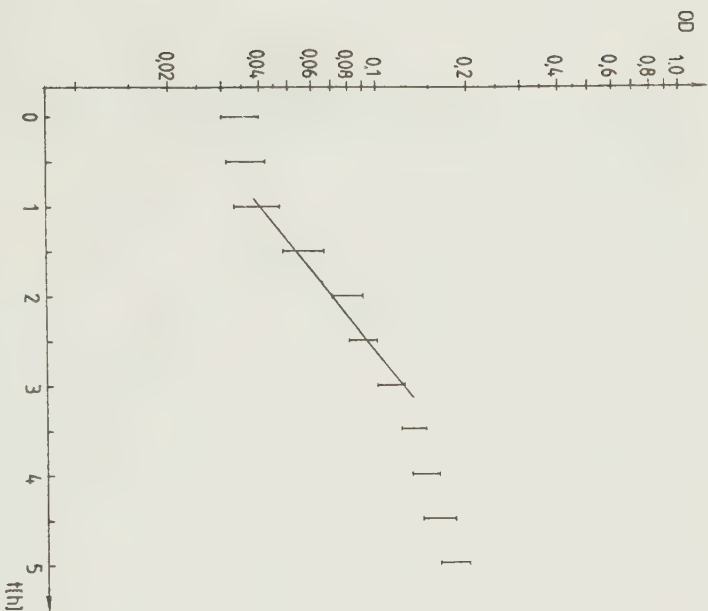


Abb. 13

Wachstum von fünf verschiedenen *S. aureus*-Stämmen in der Zeit bei pH 5,0 (Abb. 13) und bei pH 5,5 (Abb. 14). Die durchgezogene Linie stellt die mittlere Wachstumskurve dar, wie sie sich aus den Einzeluntersuchungen errechnen läßt. Die senkrechten Striche geben den jeweiligen Schwankungsbereich wieder.

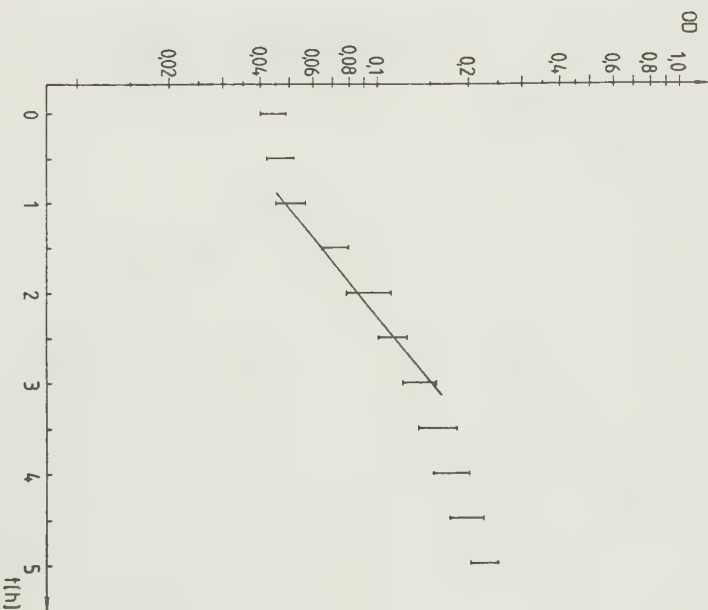


Abb. 14

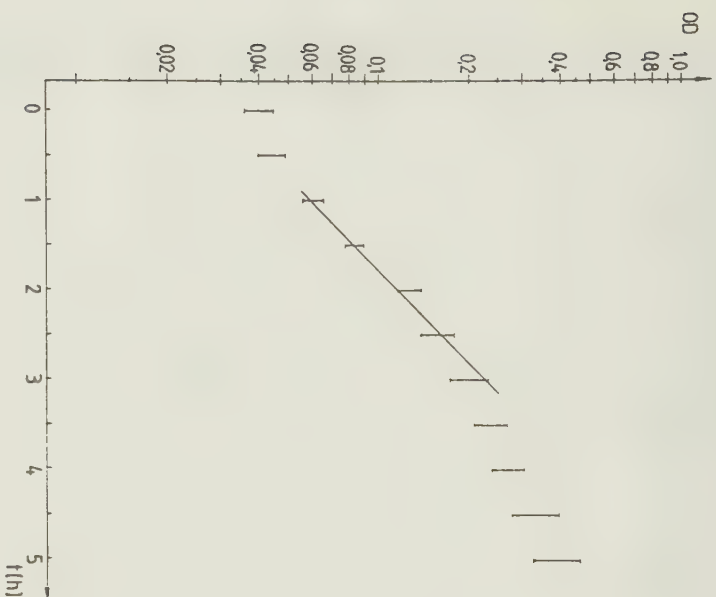


Abb. 15

Wachstum von fünf verschiedenen *S. aureus*-Stämmen in der Zeit bei pH 6,5 (Abb. 16).

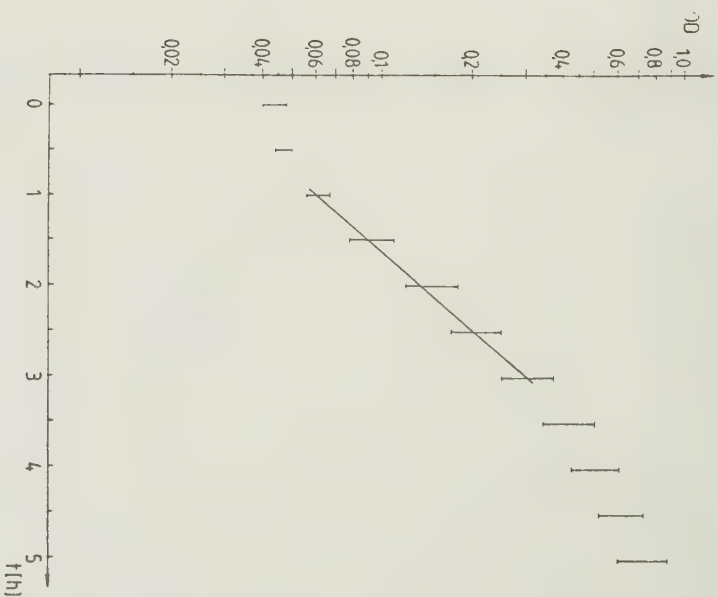


Abb. 16

und pH 6,0 (Abb. 15) und

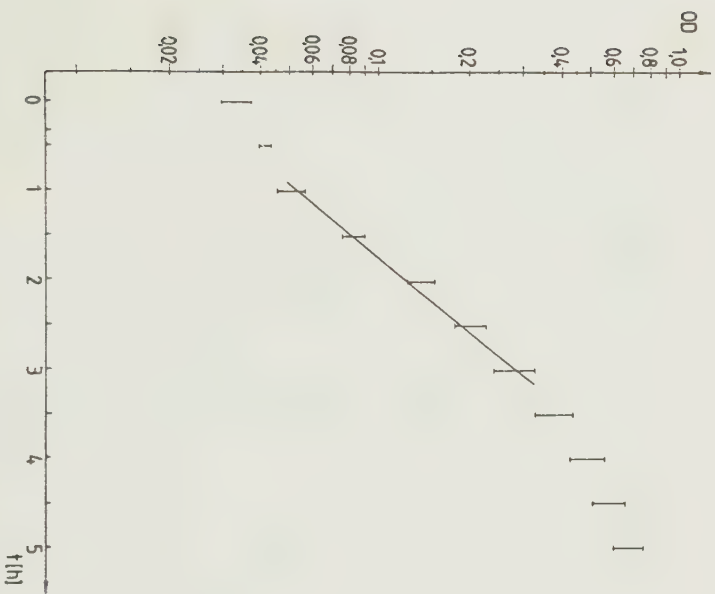


Abb. 17

Wachstum von fünf verschiedenen *S. aureus*-Stämmen in der Zeit bei pH 7,5 (Abb. 18).



Abb. 18

Wachstum von fünf verschiedenen *S. aureus*-Stämmen in der Zeit bei pH 7,0 (Abb. 17) und pH 7,5 (Abb. 18).

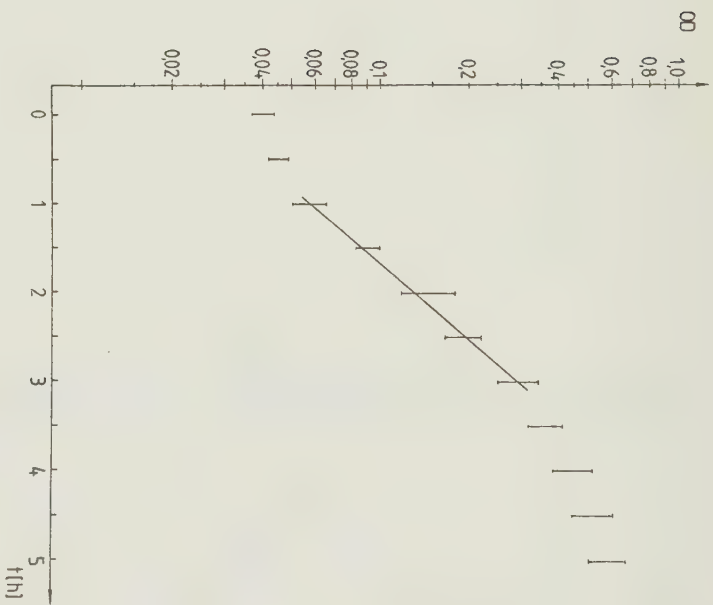


Abb. 19 Wachstum von fünf verschiedenen *S. aureus*-Stämmen in der Zeit bei pH 8,0.

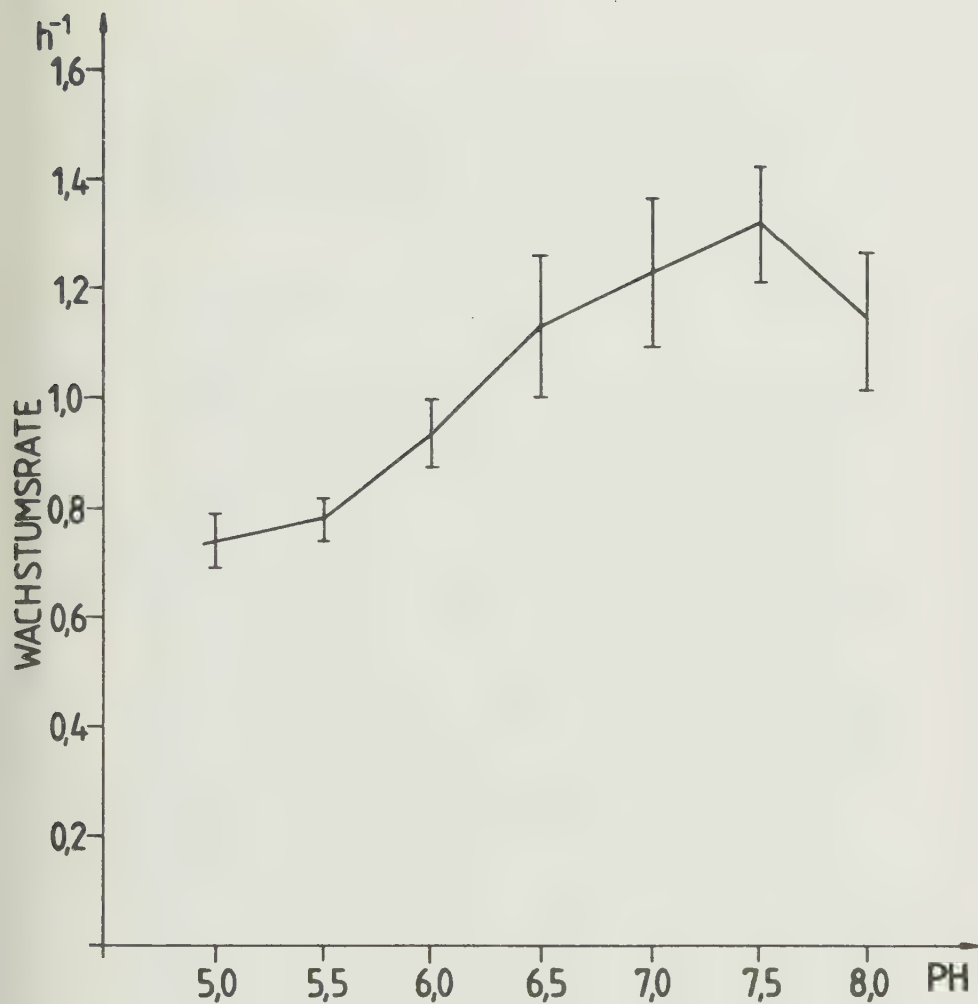


Abb. 20 Relative Wachstumsrate von *Staphylococcus aureus* in Abhängigkeit vom pH-Wert

4. Diskussion

Bei allen fünf *Staphylococcus aureus*-Stämmen zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit der Keimvermehrung vom pH-Wert der Nährlösung bei ansonsten identischen Versuchsbedingungen. Die größte relative Wachstumsrate lag bei allen Stämmen bei pH 7,5.

Die Reproduzierbarkeit des Versuchsablaufes scheint ausreichend zu sein; die Meßergebnisse aus den drei Untersuchungen am Stamm 5020/85 weisen im Durchschnitt geringere Schwankungsbreiten auf, als diejenigen aus den Untersuchungen an den fünf verschiedenen Stämmen.

Durch Zugabe von einem Teil Zitronensäure-Phosphatpuffer zu drei Teilen tryptischer Sojabouillon konnte während der Phase des exponentiellen Wachstums (log-Phase) ein pH-Abfall um mehr als 0,2 Einheiten verhindert werden. Aus Tabelle III geht hervor, daß der maximale pH-Abfall während der ersten drei Stunden nach Versuchsbeginn um so größer ist, je alkalischer das Medium und je größer die spezifische (oder relative) Wachstumsrate ist. Lediglich bei pH 8,0 überschritt der maximale pH-Abfall den von Munroe (39) empfohlenen Grenzwert von 0,2 Einheiten; es wurde hier eine pH-Veränderung von -0,23 Einheiten verzeichnet. Dies erklärt sich dadurch, daß die Kapazität des Phosphatpuffers hier bereits an ihre Grenzen stößt (Wirkbereich des Puffers: pH 2,2 - 8,0).

Die pH-Abhängigkeit des Wachstumsverhaltens ist bei allen fünf Stämmen analog. So ist die relative Wachstumsrate aller Stämme bei pH 5,5 - ein Wert, der im Bereich des physiologischen Haut-pH's liegt (10) - deutlich geringer, als bei dem für alle Stämme geltenden Optimalwert von pH 7,5. Diese Ergebnisse stimmen weitgehend mit denen von Iandolo et al. (22), die ebenfalls TSB als Wachstumsmedium verwendeten, überein. Abweichend, doch nicht im Widerspruch dazu

werden in den einschlägigen mikrobiologischen Lehrbüchern keine pH-Optima, sondern Optimalbereiche angegeben: pH 7,0 - 7,5 (7, 6) und pH 7,4 - 7,6 (13). Diese Werte beruhen jedoch anscheinend nicht auf eigenen Untersuchungen. Wie die Versuche von Markus und Silverman (36) zeigen, gilt der Optimalbereich von pH 7,0 - 7,5 auch für spezielle biochemische Leistungen von *S. aureus*, so z.B. für die Synthese von Enterotoxin B.

Von praktischer Bedeutung sind die aus den vorliegenden Versuchen gewonnenen Erkenntnisse über die pH-Abhängigkeit des Wachstumsverhaltens von *S. aureus*, wenn man sie auf die Physiologie bzw. Pathologie der Hautflora anwendet.

Der von Schade und Marchionini (47) 1929 geprägte Begriff des Säuremantels und die darauf folgenden, dieses Konzept bestätigenden Untersuchungen wurden in der Einleitung bereits abgehandelt. Obwohl sich auf Grund der Ergebnisse mancher Untersuchungen (1, 41) die Korrelation zwischen dem Haut-pH und der Keimdichte von Staphylokokken statistisch als nicht signifikant erwies und der keimzahlreduzierende Effekt des sauren Haut-pH's von manchem Autor (12) schlechthin abgestritten wird, kann heute dennoch grundsätzlich gelten, daß dem Haut-pH der gesunden menschlichen Haut - er liegt im Bereich von pH 5,4 bis 5,9 (10) - zumindest eine partielle Aufgabe im Rahmen der Bakterienabwehr zukommt, da in diesem pH-Bereich für viele Keime - so auch für Staphylokokken - ein für die Vermehrung ungünstiges Milieu vorliegt^{*} (27).

* Neben dem Haut-pH beeinflussen u.a. folgende Faktoren die Hautflora: Hautfeuchtigkeit, Fettsäuren, Desquamation, mikrobieller Antagonismus (5, 1, 43).

Dementsprechend erkannten Marchionini und Hausknecht (30), daß die bevorzugt in den sog. physiologischen Lücken des Säuremantels (Fußsohlen, Interdigitalpartien des Fußes, Anal- und Genitalgegend, Achselhöhle) auftretenden bakteriellen Hautkrankheiten u.a. dem alkalischen Milieu dieser Hautpartien zuzuschreiben sind. Beispielsweise schreibt Marchionini (30): "In der Achselhöhle beobachten wir jene hartnäckigen Abscesse der apokrinen Schweißdrüsen... Sie sind hauptsächlich durch Staphylokokken bedingt, die ihr Wachstumsoptimum in der Nähe des Neutralpunktes haben. Koch bezieht auf das von Marchionini ermittelte alkalische Milieu dieser Region (Mittelwert-pH 7,13; Anm. d. Verf.) in erster Linie die Lokalisation und auch die Hartnäckigkeit im Verlaufe dieser Erkrankungen."

Nicht nur in den physiologischen, sondern auch in den pathologischen Lücken des Säuremantels (die nach Marchionini u.a. durch atrophische, schuppige und entzündliche Hautprozesse entstehen) wurde vom selben Autor *S. aureus* "zahlreich" nachgewiesen (34).

Neuere Untersuchungen belegen das relativ häufige Vorkommen von *S. aureus* in intertriginösen Hautpartien, welche - bedingt durch die Sekretion der apokrinen Schweißdrüsen einerseits (Achselregion, Genitalregion) oder durch bakterielle, ammoniakalische Zersetzung des Schweißes wegen mangelnder Abdunstung andererseits - einen neutralen bis schwach alkalischen pH-Wert aufweisen. Noble (40) führt neben dem Nasenvorhof (der in bezug auf die hohe Inzidenz von bis zu 40% (40) eine wichtige, wenn auch noch ungeklärte Rolle spielt) vor allem die Achselhöhle, das Perineum und die Zwischenzehnräume als die einzigen Hautpartien auf, bei denen beim hautgesunden Menschen *S. aureus* als residenter Keim gefunden werden kann. Während auf der normalen,

spricht sauer reagierenden Hautoberfläche eines gesunden Menschen *S. aureus* nur zu etwa 5% (40) vorkommt, fanden Aly und Maibach (4) in ihren Untersuchungen über die bakterielle Flora in intertriginösen Hautpartien eine *S. aureus*-Inzidenz von 12% in der Leistenregion, 11% in den Zwischenzehnräumen und 9% in der Achselhöhle.

Besonders eindrucksvoll läßt sich der Einfluß eines alkalischen Hautmilieus auf die Keimdichte demonstrieren, wenn man eine gesunde, sauer reagierende Hautoberfläche (z.B. die des Unterarmes) durch Anlegen eines wasser- und luftdichten Okklusionsverbandes künstlich in einen intertriginösen Raum verwandelt. Derartige Untersuchungen unternahmen Aly und Maibach (5) sowie Hartmann (20). Parallel zum pH-Anstieg (von ca. 4,5 bis ca. 7,0) erhöhte sich die Keimzahl von coagulase-negativen Staphylokokken um mehrere Zehnerpotenzen. Freilich trug daneben auch der Anstieg der relativen Hautfeuchtigkeit zur Wachstumsvermehrung bei.

Ebenso konnten auch Rajka et al. (45) bei Atopikern und Psoriatikern durch kurzzeitig angelegte Okklusionsverbände einen drastischen Anstieg von *S. aureus* verzeichnen. Gerade bei diesen Patienten - hier vor allem wiederum bei den Atopikern - läßt sich gegenüber der Normalpopulation eine wesentlich höhere Inzidenz und Keimdichte von *S. aureus* verzeichnen und zwar sowohl in hautgesunden wie -kranken Bezirken (2, 14, 28, 3, 19). Einer Studie zufolge bezifferten Aly et al. (2) die Trägerrate von *S. aureus* auf 93% in kranken Hautpartien, 76% in gesunden Hautpartien und 79% im Nasenvorhof. In den von Dermatitis atopica betroffenen Hautbezirken betrug der Anteil von *S. aureus* an der gesamten Hautflora 91%.

Die Ursache für das starke Dominieren dieses Keimes bei Atopikern ist noch unbekannt. Marchionini (33) fand in seinen Untersuchungen mit der Chinchydronelektrode bei Patienten mit hyper- und para-

keratotischen Prozessen (zu denen er auch das neurodermitische Ekzem zählte), "...daß bei schuppenden Prozessen eine ganz erhebliche Herabsetzung der Säurezahl der Hautoberfläche im Krankheitsherde eintreten kann." (33). Die Ursache sah er in der durch die verdickte Hornschicht behinderten Abdunstung des ekkrienen (sauren) Schweißdrüsensekretes.

Neuere Veröffentlichungen (50, 9) weisen zudem auf eine gestörte Schweißdrüsenfunktion bei Atopikern hin. Somit könnte über den dadurch beeinträchtigten Säureschutzmantel ein Zusammenhang zur hohen Keimdichte von *S. aureus* bei diesem Patientenkreis hergestellt werden. Zur Therapie des atopischen Ekzems wird jedenfalls empfohlen, daß bei der Hautreinigung den nichtalkalischen Hautreinigungsmitteln, wie Dermowas, Praecutan, Satina oder sebamed der Vorzug gegenüber alkalischen Seifen zu geben sei (9).

Die Anwendung dieser synthetischen Detergenzien, auch "Syndets" genannt, scheint sinnvoll zu sein, bedingt doch der durch die Verwendung derselben über längere Zeit stabil gehaltene Haut-pH von 5,5 ein ungünstiges Milieu für das Wachstum von *S. aureus*; dies wurde nicht nur durch die hier durchgeführten in vitro Versuche gezeigt, sondern in neueren in vivo Untersuchungen bestätigt: Korting et al. (27) kamen zu dem Ergebnis, daß unter Verwendung von sauren Syndets (die im Vergleich zu alkalischen Seifen keine Haut-pH-Verschiebung herbeiführten) eine geringere *Staphylococcus epidermidis*-Besiedlung (dabei handelt es sich um einen *S. aureus* nahe verwandten Keim) zu verzeichnen ist, als unter Verwendung von Seifen.

Wenn wohl auch kein völliges Verschwinden von *S. aureus* erreicht werden kann (dieser Keim wächst in einem breiten Spektrum von pH 4,2 bis 9,4 (7, 6, 15)), so ist dennoch davon auszugehen, daß bei Patienten mit atopischem Ekzem durch Anwendung von sauren Syn-

dets eine Keimreduktion von *S. aureus* erreicht werden kann. Im Hinblick auf die direkte bzw. indirekte Mitbeeinflussung des Ekzemgeschehens durch diesen Keim (14) könnte dadurch zumindest einer Verschlimmerung der Erkrankung entgegengewirkt werden.

Darüberhinaus erscheint die Anwendung von sauren Syndets bei Neigung zu rezidivierenden *S. aureus*-Hautinfektionen wie Furunkeln sinnvoll.

5. Zusammenfassung

Fünf unterschiedliche Hautisolate von *Staphylococcus aureus* wurden in einem gepufferten Flüssigmedium auf die Abhängigkeit ihres Wachstums bei konstant gehaltenen unterschiedlichen pH-Werten hin untersucht. Es fand sich eine starke Abhängigkeit der Wachstumsrate vom pH-Wert. Das Wachstumsoptimum lag bei pH 7,5. Dieses Ergebnis läßt den Schluß zu, daß durch Anwendung von sauren Syndets ein für die Vermehrung von *S. aureus* ungünstiges pH-Milieu geschaffen bzw. konstant erhalten wird. Besonders zu empfehlen ist die Anwendung dieser Syndets den Patienten, bei denen *S. aureus* bei der Ekzemenese (z.B. atopisches Ekzem) eine gewisse Bedeutung zukommt und deshalb durch eine Keimreduktion einer Verschlechterung der Erkrankung möglicherweise entgegengewirkt werden kann, sowie jenen, die zu rezidivierenden *S. aureus*-Infektionen der Haut wie Furunkeln neigen.

6. Literaturverzeichnis

- 1.) Aly, R., Maibach, H.I., Mandel, A., Shinefield, H.R.: Factors controlling the survival of *S. aureus* on human skin. In: Jeljaszewicz J. (Hrsg.): Staphylococci and staphylococcal diseases. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 941-946 (1976)
- 2.) Aly, R., Maibach, H.I., Shinefield, H.R.: Microbial flora of atopic dermatitis, Arch. Dermatol. 113, 780-782 (1977)
- 3.) Aly, R., Bacteriology of atopic dermatitis, Acta Dermatovenerol. 92, 16-18 (1980)
- 4.) Aly, R., Maibach, H.I.: Aerobic microbial flora of intertrigenous skin, Appl. Environ. Microbiol. 33, 97-100 (1977)
- 5.) Aly, R., Maibach, H.: Factors controlling skin bacterial flora, in: Maibach, H.I., Aly, R.: Skin microbiology, Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 29-39 (1981)
- 6.) Baird-Parker, A.C.: Classification and identification of staphylococci and their resistance to physical agents, in: Cohen, J.O.: The staphylococci, Wiley-Interscience, New York, London, Sydney, Toronto, 1-20 (1972)
- 7.) Baird-Parker, A.C.: Staphylococcus Rosenbach 1884, in: Buchanan, R.E., Gibbons, N.E.: Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th edition, Williams and Wilkins, Baltimore, 483-487 (1974)

- 8.) Böhme, H., Hartke, K.: Europäisches Arzneibuch, Kommentar (Band I und II), 2. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Govi-Verlag GmbH, Frankfurt, 39-40 (1978)
- 9.) Braun-Falco, O., Plewig, G., Wolff, H.H.: Dermatologie und Venerologie, 3., neubearbeitete Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 313-322 (1984)
- 10.) Braun-Falco, O., Korting, H.C.: Der normale pH-Wert der menschlichen Haut, Hautarzt 37, 126-129 (1986)
- 11.) Bridson, E.Y., Brecker, A.: Design of media, in: Norris, J.R., Ribbons, D.W.: Methods in microbiology, Volume 3A, Academic Press, London, New York, 276 (1970)
- 12.) Cornbleet, T.: Self-sterilizing power of the skin, Arch. Dermatol. Syph. 28, 526-531 (1933)
- 13.) Cruickshank, R., Duguid, B.P., Marmion, B.P., Swain, R.H.A.: Medical microbiology, Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York, Volume 2, 87-88, 356-365 (1975)
- 14.) Dahl, M.V.: Staphylococcus aureus and atopic dermatitis, Arch. Dermatol. 119, 840-845 (1983)
- 15.) Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.N., Ginsberg, H.S., Wood, B.W.: Microbiology, Harper and Row, Hagerstown, Maryland, 728-739 (1973)

- 16.) Drews, G.: Mikrobiologisches Praktikum, 3. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 117-121 (1976)
- 17.) Gebler, H.: Tabellen für die pharmazeutische Praxis, Gavi-Verlag, Frankfurt (Main), 135 (1982)
- 18.) Genigeorgis, C., Sadler, W.W.: Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin B production, J. Bact. 92, 1383-1387 (1966)
- 19.) Gloor, M., Peters, G., Stoika, D.: On the resident aerobic bacterial skin flora in unaffected skin of patients with atopic dermatitis and in healthy controls, Dermatologica 164, 258-265 (1982)
- 20.) Hartmann, A.A.: Effect of occlusion on resident flora, skin moisture and skin pH, Arch. Dermatol. Res. 275, 251-254 (1983)
- 21.) Hendrickson, D.A.: Reagents and Stains, in: Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J. Jr., Shadomy, H.J.: Manual of clinical microbiology, American Society of Microbiologists, Washington, 4th edition, 1093-94 (1985)
- 22.) Iandolo, J.J., Ordal, Z.J., Witter, L.D.: The effect of incubation temperature and controlled pH on the growth of staphylococcus aureus MF 31 at various concentrations of NaCl, Can. J. Microbiol. 10, 808-811 (1964)
- 23.) McIlvaine, T.C.: A buffer solution for colorimetric comparison, J. Biol. Chem. 49, 183-186 (1921)

- 24.) Jacherts, D., Jacherts, B.: Elemente der Bakterienphysiologie, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt (Main), 55 (1964)
- 25.) Kloos, W.E., Schleifer, K.H.: Simplified scheme for routine identification of human staphylococcus species, J. Clin. Microbiol. 1, 82-88 (1975)
- 26.) Kloos, W.E., Jorgensen, J.H.: Staphylococci, in: Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J. jr., Shadomy, H.J.: Manual of clinical microbiology, 4th edition, American society of microbiologists, Washington, 143-153 (1985)
- 27.) Korting, H.C., Kober, M., Müller, M., Braun-Falco, O.: Influence of repeated washings with soap and syndet on pH and resident flora of the skin of forehead and forearm. Results of a crossover trial in healthy probitioners, Acta Dermatovenerol. (in press)
- 28.) Leyden, J.J., Marples, R.R., Kligman, A.M.: Staphylococcus aureus in the lesions of atopic dermatitis, Brit. J. Dermatol. 90, 525-530 (1974)
- 29.) Lütticken, R., Otte, H.J.: Die Familie der Micrococcae, in: Brandis, H., Otte, H.J.: Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 360-367 (1984)
- 30.) Marchionini, A., Hausknecht, W.: Säuremantel der Haut und Bakterienabwehr. I. Mitteilung: Die regionale Verschiedenheit der Wasserstoffionenkonzentration der Hautoberfläche, Klin. Wochenschr. 17, 663-666

- 31.) Marchionini A., Schmidt, R., Kiefer, J.: Säuremantel der Haut und Bakterienabwehr, II. Mitteilung: Die regionäre Verschiedenheit der Bakterienabwehr und Desinfektionskraft der Hautoberfläche, Klin. Wochenschr. 17, 736-739 (1938)
- 32.) Marchionini A., Schmidt, R.: Säuremantel der Haut und Bakterienabwehr, III. Mitteilung: Über die regionäre Verschiedenheit des Bakterienwachstums auf der Hautoberfläche, Klin. Wochenschr. 17, 773-775 (1938)
- 33.) Marchionini, A., Säuremantel der Haut und Bakterienabwehr, IV. Mitteilung: Pathologische Lücken des Säuremantels, Klin. Wochenschr. 17, 1831-1835 (1938)
- 34.) Marchionini, A., Schmidt, R.: Säuremantel der Haut und Bakterienabwehr, V. Mitteilung: Der Bakteriengehalt in pathologischen Lücken des Säuremantels, Klin. Wochenschr. 18, 461-467 (1939)
- 35.) Marchionini, A., Pascher, G., Röckl, H.: Der pH-Wert der Hautoberfläche und seine Bedeutung im Rahmen der Bakterienabwehr, in: Pillsbury, D.M., Livingood, D.S.: Proceedings of the XII. International Congress of Dermatology, Volume 1, Int. Congress Series Nr. 55, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 396-403 (1963)
- 36.) Markus, Z., Silverman, G.J., Enterotoxin B synthesis by replicating and nonreplicating cells of staphylococcus aureus, J. Bact. 97, 506-512 (1969)

- 37.) Marples, R.R., Richardson, J.F.: Evaluation of a micromethod gallery (API-Staph) for the identification of staphylococci and micrococci, J. Clin. Pathol. 35, 650-656 (1982)
- 38.) Meynell, G.G., Meynell, E.: Theory and practice in experimental microbiology, Cambridge University Press, Cambridge, 45, 239 (1965)
- 39.) Munroe, A.L.S.: Measurement and control of pH values, in: Norris, J.R., Ribbons, D.W.: Methods in microbiology, Volume 2, Academic Press, London, New York, 39-88 (1970)
- 40.) Noble, W.C., Somerville, D.A.: Microbiology of human skin, Saunders, Philadelphia, 2nd edition, 152-181 (1981)
- 41.) Noble, W.C.: Observations on the surface flora of the skin and on the skin pH, Brit. J. Dermatol. 80, 279-281 (1968)
- 42.) Oberzill, W.: Mikrobiologische Analytik, Verlag Hans Carl, Nürnberg, 140 (1967)
- 43.) Pillsbury, D.M., Rebell, G.: The bacterial flora of the skin, J. Invest. Dermatol. 18, 173-186 (1952)
- 44.) Radebold, K., Essers, L.: Zur Beurteilung des API-Staph-Systems für die routinemäßige Identifizierung von Staphylokokken, Ärztl. Lab. 26, 236-238 (1980)
- 45.) Rajka, G., Aly, R., Bayles, C., Tang, Y., Maibach, H.: The effect of short-term occlusion on the cutaneous flora in atopic dermatitis and psoriasis, Acta Dermatovenerol. 61, 150-153 (1981)

- 46.) Röckl, H., Spier, H.W., Pascher, G.: Der Einfluß wasserlöslicher Bestandteile der Hornschicht auf Bakterien, Arch. klin. exp. Dermatol. 205, 420-434 (1957)
- 47.) Schade, H., Marchionini, A.: Der Säuremantel der Haut, Klin. Wochenschr., 7, 12-14 (1928)
- 48.) Tronnier, H.: Seifen und Syndets in der Hautpflege und -therapie, Ärztl. Kosmetol. 15, 19-30 (1985)
- 49.) Veldkamp, H.: Enrichment cultures of prokaryotic organisms, in: Norris J.R., Ribbons, D.W.: Methods in microbiology, Volume 3A, Academic press, London, New York, 316 (1970)
- 50.) Wirth, H., Gloor, M., Stoika, D.: Sebaceous glands in uninvolved skin of patients suffering von atopic dermatitis, Arch. Dermatol. Res. 270, 167-169 (1981)
- 51.) Wiesmann, E.: Medizinische Mikrobiologie, fünfte Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 110-114 (1982)

7. Lebenslauf

<u>Name:</u>	Peter Baldauf
<u>Geburtsdatum:</u>	3. Juni 1960
<u>Geburtsort:</u>	Füssen (Kreis Ostallgäu)
<u>Eltern:</u>	Gotthard Baldauf, Studiendirektor Ulrike Baldauf, Oberstudienrätin
<u>Personenstand:</u>	ledig
<u>Konfession:</u>	römisch-katholisch

Schulausbildung:

1966 - 1970	Volksschule Bühl/Alpsee und Füssen
1970 - 1979	Gymnasium Füssen und Kempten
5/79	Abitur

Studium:

11/79 - 3/85	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
4/85 - 3/86	Ableistung des Praktischen Jahres
4/86	Drittes Staatsexamen
5/86	Approbation als Arzt

8. Danksagung

Für die Überlassung des Themas möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr.h.c. Otto Braun-Falco, Direktor der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München, danken.

Für die freundliche Beratung und kritische Durchsicht meiner Arbeit danke ich Herrn Oberarzt PD Dr.med. H.C. Korting.

Darüberhinaus gebührt mein Dank auch den medizinisch-technischen Assistentinnen des bakteriologischen Labors der Dermatologischen Klinik der Universität München, Frau Kaspar, Frau Weishaar und Frau Bergen-Rieder, deren praktische Erfahrung und technische Unterstützung mir sehr hilfreich bei der Durchführung meiner Untersuchungen waren.

